

**VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN
ZUR METHODIK DER
HEPATITIS-B-ANTIGEN BESTIMMUNG**

Christine Roessner

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INSTITUT FÜR INFektions- UND TROPENMEDIZIN
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

ÄRZTLICHER LEITER: PROFESSOR DR. W. LANG

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN
ZUR METHODIK DER
HEPATITIS-B-ANTIGEN BESTIMMUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
CHRISTINE ROESSNER
aus Dillingen

München 1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität
München

Berichterstatter: Professor Dr. W. LANG
Mitberichterstatter: Professor Dr. BUCHBORN
Dekan: Professor Dr. SPANN
Tag der mündlichen Prüfung: 24.2.1976



INHALTSVERZEICHNIS

I. Das Hauptkapitel: Die Grundlagen der Chemie	1
1. Die Grundlagen der Chemie	1
2. Die Grundlagen der Chemie	2
3. Die Grundlagen der Chemie	3
4. Die Grundlagen der Chemie	4
5. Die Grundlagen der Chemie	5
6. Die Grundlagen der Chemie	6
7. Die Grundlagen der Chemie	7
8. Die Grundlagen der Chemie	8
9. Die Grundlagen der Chemie	9
10. Die Grundlagen der Chemie	10
II. Die Grundlagen der Chemie	11
1. Die Grundlagen der Chemie	11
2. Die Grundlagen der Chemie	12
3. Die Grundlagen der Chemie	13
4. Die Grundlagen der Chemie	14
5. Die Grundlagen der Chemie	15
6. Die Grundlagen der Chemie	16
7. Die Grundlagen der Chemie	17
8. Die Grundlagen der Chemie	18
9. Die Grundlagen der Chemie	19
10. Die Grundlagen der Chemie	20
11. Die Grundlagen der Chemie	21
12. Die Grundlagen der Chemie	22
13. Die Grundlagen der Chemie	23
14. Die Grundlagen der Chemie	24
15. Die Grundlagen der Chemie	25
16. Die Grundlagen der Chemie	26
17. Die Grundlagen der Chemie	27
18. Die Grundlagen der Chemie	28
19. Die Grundlagen der Chemie	29
20. Die Grundlagen der Chemie	30
21. Die Grundlagen der Chemie	31
22. Die Grundlagen der Chemie	32
23. Die Grundlagen der Chemie	33
24. Die Grundlagen der Chemie	34
25. Die Grundlagen der Chemie	35
26. Die Grundlagen der Chemie	36
27. Die Grundlagen der Chemie	37
28. Die Grundlagen der Chemie	38
29. Die Grundlagen der Chemie	39
30. Die Grundlagen der Chemie	40
31. Die Grundlagen der Chemie	41
32. Die Grundlagen der Chemie	42
33. Die Grundlagen der Chemie	43
34. Die Grundlagen der Chemie	44
35. Die Grundlagen der Chemie	45
36. Die Grundlagen der Chemie	46
37. Die Grundlagen der Chemie	47
38. Die Grundlagen der Chemie	48
39. Die Grundlagen der Chemie	49
40. Die Grundlagen der Chemie	50
41. Die Grundlagen der Chemie	51
42. Die Grundlagen der Chemie	52
43. Die Grundlagen der Chemie	53
44. Die Grundlagen der Chemie	54
45. Die Grundlagen der Chemie	55
46. Die Grundlagen der Chemie	56
47. Die Grundlagen der Chemie	57
48. Die Grundlagen der Chemie	58
49. Die Grundlagen der Chemie	59
50. Die Grundlagen der Chemie	60
51. Die Grundlagen der Chemie	61
52. Die Grundlagen der Chemie	62
53. Die Grundlagen der Chemie	63
54. Die Grundlagen der Chemie	64
55. Die Grundlagen der Chemie	65
56. Die Grundlagen der Chemie	66
57. Die Grundlagen der Chemie	67
58. Die Grundlagen der Chemie	68
59. Die Grundlagen der Chemie	69
60. Die Grundlagen der Chemie	70
61. Die Grundlagen der Chemie	71
62. Die Grundlagen der Chemie	72
63. Die Grundlagen der Chemie	73
64. Die Grundlagen der Chemie	74
65. Die Grundlagen der Chemie	75
66. Die Grundlagen der Chemie	76
67. Die Grundlagen der Chemie	77
68. Die Grundlagen der Chemie	78
69. Die Grundlagen der Chemie	79
70. Die Grundlagen der Chemie	80
71. Die Grundlagen der Chemie	81
72. Die Grundlagen der Chemie	82
73. Die Grundlagen der Chemie	83
74. Die Grundlagen der Chemie	84
75. Die Grundlagen der Chemie	85
76. Die Grundlagen der Chemie	86
77. Die Grundlagen der Chemie	87
78. Die Grundlagen der Chemie	88
79. Die Grundlagen der Chemie	89
80. Die Grundlagen der Chemie	90
81. Die Grundlagen der Chemie	91
82. Die Grundlagen der Chemie	92
83. Die Grundlagen der Chemie	93
84. Die Grundlagen der Chemie	94
85. Die Grundlagen der Chemie	95
86. Die Grundlagen der Chemie	96
87. Die Grundlagen der Chemie	97
88. Die Grundlagen der Chemie	98
89. Die Grundlagen der Chemie	99
90. Die Grundlagen der Chemie	100

INHALTSVERZEICHNIS

I. Das Hepatitis-B-Antigen in der Literatur	S. 2
1. Morphologie des Hepatitis-B-Antigen	S. 2
2. Epidemiologie des Hepatitis-B-Antigen	S. 7
3. Prophylaxe der Serumhepatitis	S. 10
II. Experimenteller Teil	S. 13
1. Material und Methode	S. 13
2. Ergebnis	S. 15
2.1 Vergleich Ausria I/NaCl und HÄM/NaCl	S. 15
2.2 Vergleich Ausria I/Serum und HÄM/Serum	S. 18
2.3 Vergleich Ausria II/Serum und HÄM/Serum	S. 20
2.4 Vergleich Ausria I und Ausria II	S. 22
2.5 Vergleich Ausria I/Serum und Ausria I/Gammaglobulin	S. 23
2.6 Vergleich Ausria II/Serum und Ausria II/Gammaglobulin	S. 25
3. Diskussion	S. 29
III. Zur Kasuistik der Hapatitis-B-positiven Tropenrückkehrer	S. 33
1. Patienten, die sich längere Zeit in den Tropen aufgehalten haben	S. 33
2. Patienten, die aus tropischen Gebieten stammen	S. 35

E I N L E I T U N G

Die Entdeckung des Hepatitis-B-Antigen (HB-Ag, Australia-Antigen) durch Blumberg 1965 (1) leitete eine neue Entwicklung in der Hepatitisforschung ein.

Der Zusammenhang zwischen dem Hepatitis-B-Antigen (HB-Ag) und der Serumhepatitis wurde bald erkannt (2, 3, 4, 5, 6).

Später stellte sich heraus, daß das HB-Ag häufig bei Patienten mit chronisch-aggressiver Hepatitis, protrahierter Hepatitis, Leberzirrhose und primären Leberkarzinomen auftrat (6, 7). Auch wurde bei Personen das HB-Ag nachgewiesen, die keine Beschwerden oder Transaminasenerhöhungen hatten. Man nennt diese die symptomlosen Träger. Trotz großer und umfangreicher Forschungsarbeiten ist es bis heute nicht gelungen, das Antigen eindeutig zu klassifizieren und in seiner Bedeutung zu erfassen.

Der erste Teil dieser Dissertation bringt eine Zusammenfassung der Literatur und gibt einen Überblick über den Stand der Forschungsarbeit. Im zweiten Teil erfolgt die Auswertung eines in vitro Experiments, das einen Vergleich zwischen einem Radioimmunassay- und einem passiven Hämagglutinationstest aufstellt. Eine weitere Aufgabe der experimentellen Arbeit war es, die Neutralisationswirkung des Gammaglobulins bei Hepatitis B positiven Seren nachzuweisen. Im dritten Teil wird die Häufigkeit von HB-Ag bei Tropenrückkehrern untersucht und diskutiert.

I. Das Hepatitis B - Antigen in der Literatur

1. Morphologie

1.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften

Nach der Entdeckung des Hepatitis B-Antigens tauchte die Frage auf, ob es das Virus der Serumhepatitis ist. Deswegen wurden seine Eigenschaften auf die eines Virus hin überprüft.

Es hat eine Größe von ca. 26 nm und eine Schwimmdichte von 1,2 g/ccm (10) in Caesiumchlorid. Nach einer Behandlung mit den Detergentien Dodecylsulfat, Deoxycholsäure und Tween 80 wurden die Eigenschaften des Antigens noch einmal untersucht (9). Nach der Behandlung mit Dodecylsulfat war die Schwimmdichte in Caesiumchlorid geringer und es konnte in der Komplementbindungsreaktion kein HB-Ag mehr nachgewiesen werden. Die Deoxycholsäure induzierte eine größere Dichte und eine positive Komplementbindungsreaktion, während nach der Behandlung mit Tween 80 eine geringere Dichte resultierte (9,10).

Andere Kriterien für die Beschaffenheit eines Virus ist seine Stabilität gegen Hitze und pH Verschiebung. Das HB-Ag bleibt bei einer Erhitzung auf 56 °C stabil und kann bei minus 10 bis minus 20 °C länger als 1 Jahr aufbewahrt werden. Denaturiert wird es bei 100 °C (9,10).

Die Reaktivität des HB-Ag bleibt bei einer Inkubation von pH 2,7 unbeeinflusst und war gegen eine Behandlung mit Äther und Chloroform resistent. Wahrscheinlich werden durch diese Behandlung andere genetische Gruppen aufgedeckt, da sich im Diffusionstest zwei Präzipitationslinien zeigten, wo vorher nur eine zu sehen war. Das HB-Ag verlor seine Aktivität in Phosphatpuffer von pH 7,6 (9).

1.2 Struktur

Eine neue Entwicklung in der Aufklärung der Morphologie des Hepatitis B-Antigens wurde durch Dane und seine Mitarbeiter eingeleitet, als sie durch Ultrazentrifugation von HB-Ag-positivem Serum im Elektronenmikroskop verschiedenartige Teilchen fanden. Sie ließen sich unterschiedlich stark anfärben und hatten verschiedene Größe und Form. Es waren tubuläre und sphärische Formen von 22 nm Größe und 42 nm große sphärische Partikel, die eine doppelte Hülle besaßen. Diese waren resistent gegen Äther und gingen durch Bakterienfilter von 52 nm Größe (11).

Weitere Untersuchungen der 42 nm großen Teilchen ergaben, daß sie sich nach Behandlung mit einem Detergens und Zentrifugation in eine äußere Hülle und eine innere Komponente aufteilten. Die innere Komponente, auch Core-Antigen genannt, 27 nm im Durchmesser, ähnelte einem Picornavirus und war identisch mit Teilchen, die man in Leberhomogenaten von Patienten mit Hepatitis B fand (12,13). Die äußere Hülle, auch Surface-Antigen genannt, ist das bisherige Hepatitis B-Antigen und setzt sich aus zwei großen Lipoproteinanteilen mit einem Molekulargewicht von 26 000 und 32 000 zusammen und einem kleinen Proteinanteil mit einem Molekulargewicht von 40 000 (14).

Aus diesem Ergebnis resultiert eine bemerkenswerte Heterogenität des HB-Ag, das sich, um es nocheinmal zusammenzufassen, aus drei strukturell unterschiedlichen Teilchen zusammensetzt:

1. Der wesentliche antigenetische Anteil ist ein kleines, pleomorphes Teilchen von 16 bis 25 nm Durchmesser.
2. Tubuläre Teilchen in verschiedenen Längen, aber mit einem konstanten Durchmesser von 20 nm, die an einem oder beiden Enden Schwellungen aufweisen.

3. Die Dane-Teilchen, die sich aus einem 27 nm großen Core-Teilchen und dem Surface-Antigen, das einen Proteinmantel um das Core-Teilchen bildet, zusammensetzen (15).

Es besteht die Möglichkeit, daß die 42 nm großen Dane-Teilchen der Hepatitis B Virus sind. Die Core-Teilchen könnten das Viruscapsid darstellen und das Oberflächenantigen die äußere Hülle.

1.3 Subtypen

Diese Strukturen haben eine gemeinsame gruppenspezifische Antigen determinante "a". Als weitere Antigen determinanten oder Subtypen existieren "d" und "y", "w" und "r" und "e" (15, 16, 17, 18). Man fand diese Determinanten, in dem man das Serum, das man untersuchen wollte, gegen ein monospezifisches Antiserum diffundieren liess. Dabei bildeten sich Präzipitationslinien, anhand deren man die Determinanten identifizieren konnte (20). Die Subtypen "d" und "y", "w" und "r" schließen einander aus. Es gibt also vier mögliche Konstellationen der Antigen determinanten: adw, ayw, adr, ayr. Diese sind phänotypische Ausdrucksformen von genotypischen Varianten. Sie sind virusspezifisch und nicht wirtsspezifisch und daher von epidemiologischer Bedeutung (19). Die genaue Zusammensetzung der "e" Determinante ist noch nicht geklärt und könnte auch wirtsspezifisch sein, da sie hauptsächlich bei symptomlosen Trägern und Patienten mit chronischen Leberkrankheiten auftritt (15).

1.4 Bildung von Immunkomplexen

Auf der Suche nach Immunkomplexen fand Brzosko 1971 mit Hilfe eines Immunfluoreszenztestes (IFT), daß in der dritten Woche der akuten Virushepatitis zu 90 % Antikörper und bei Patienten mit chronischer Hepatitis zu 100 % Antikörper

vorhanden waren (23). Bei systematischen Untersuchungen fand man auch Antikörper bei Leuten, die nie eine klinische Serumhepatitis durchgemacht hatten. Das waren vor allem solche Personen, die einer großen Ansteckungsgefahr ausgesetzt waren, wie Laborantinnen, Pflegepersonal in Dialyse- und Infektionsstationen oder Hämophiliepatienten.

Ein neues Antigen-Antikörpersystem fand Almeida bei der Untersuchung der Dane-Teilchen (12). Antikörper in einem posthepatischen Serum reagierten nur mit den Core-Teilchen ($HB_C Ag$), während man Antikörper gegen das Mantelantigen ($HB_S Ag$) nicht fand. Weitere Versuche ergaben, daß die Antikörper gegen das $HB_S Ag$ in der Frühphase der akuten Hepatitis auftreten, ebenso Antikörper gegen das 20 nm große Teilchen. Diese verschwinden mit dem Anstieg der Leberenzyme. Dann lassen sich Antikörper gegen das $HB_C Ag$ nachweisen, und diese bleiben oft jahrelang bestehen (25,26). Antiseren gegen das Oberflächenantigen reagierten nur mit dem $HB_S Ag$ und den 20 nm großen sphärischen und tubulären Teilchen und nicht mit der inneren Komponente. Umgekehrt ergab sich das Gleiche (26). Es müssen also zwei verschiedene Antigen-Antikörpersysteme vorliegen, die man eventuell zur Beurteilung der vorliegenden Hepatitis verwenden könnte. Chronische $HB_S Ag$ Träger haben zu 100 % Antikörper gegen das $HB_C Ag$.

1.5 Polymeraseaktivität

Bis 1971, als Hirschmann und seine Mitarbeiter DNA-Polymerase entdeckten, konnte keine Enzymaktivität des $HB Ag$ nachgewiesen werden. Endogene, DNA-synthetisierende Aktivität wurde in $HB Ag$ positiven Seren beobachtet, die Dane-Teilchen besaßen (29). Zwei Jahre später wurde diese Aktivität auf die Core-Teilchen des Hepatitis B-Antigens begrenzt, die spontan einsetzte, oder durch eine Behandlung mit einem Detergens aufgelöst wurde (27). Diese Core-Teilchen, die in der Lage sind

aktiv DNA zu synthetisieren, stellen eine Untergruppe der Core-Teilchen dar, da nicht alle diese Fähigkeit besitzen. Man kann sie dadurch unterscheiden, daß die potenten Teilchen eine wesentlich höhere Schwimmdichte besitzen als die leeren Teilchen. Ein Grund dafür konnte bis jetzt nicht angegeben werden.

Drei Beobachtungen geben zu der Vermutung Anlaß, daß die Enzyme, das DNA Reaktionsprodukt und die eventuell vorhandene DNA Matrize in den Core-Teilchen so geschützt liegen, daß große DNase Moleküle und Nukleinsäuren nicht eindringen können:

1. Die DNA ließ sich innerhalb der intakten Core-Teilchen nicht zerstören.
2. Die Fähigkeit der Teilchen DNA zu synthetisieren wurde weder durch DNase noch RNase beeinflusst.
3. Die Reaktion konnte durch Nukleinsäuren nicht stimuliert werden.

Kleine Moleküle, wie Actinomycin D und Daunomycin penetrierten in die Core-Teilchen und verhinderten die Reaktion.

Dieses Ergebnis wurde durch Versuche bestätigt, bei denen die DNA aus den Core-Teilchen herausgelöst wurde. Die Moleküle ließen sich durch DNase zerstören (30).

Ungeklärt ist, ob diese Polymerase spezifisch für den Hepatitis-virus ist, oder ob es sich um eine unspezifische menschliche DNA-Polymerase der Dane-Teilchen handelt, vorallem weil nicht alle Cores sie enthalten. Es gibt auch keinen Anhalt, daß die DNA-Aktivität mit der Infektiosität des Hepatitis B-Virus korreliert.

2. Epidemiologie

2.1 Verbreitung

Nach systematischen Untersuchungen von möglichen HB-Ag Trägern hat es sich gezeigt, daß dieses über die ganze Welt verteilt ist. Es ist nachweisbar im Serum von 0,1 % der Bevölkerung Westeuropas, bei 6 % der Philippinen und wurde bei 20 % der Bewohner Neu-Guineas gefunden (19). Ein hoher Prozentsatz Hepatitis B-Antigen Träger lebt in tropischen oder subtropischen Gebieten. Aufgrund der Subtypen konnten geographische Unterschiede festgestellt werden. Im Mittelmeerraum beherrschen die Subtypen "ayw" vor, während in den nördlichen Ländern Kanada, Nordamerika, Westeuropa, "adw" als Determinanten nachgewiesen wurden. Dieses trifft nur für symptomlose Träger zu, da bei einer akuten Hepatitis die Subtypen des inokulierten Virus entscheidend sind. Die Determinanten sind von Heimat- und Geburtsland abhängig, und nicht von dem Land, in dem der Wohnsitz liegt (8). Sie standen aber in keiner Beziehung zum Alter, Geschlecht, Blutgruppe oder Rhesus-System. Mit Hilfe von Leberbiopsie und Leberfunktionsproben konnte kein Unterschied im Verhalten der Antigendeterminanten bei symptomlosen Trägern eruiert werden.

Bei akuten Virushepatitiden wurden in Kopenhagen aber Unterschiede festgestellt (51). 79 % der Patienten hatten eine Hepatitis mit dem Subtyp "y" und 21 % vom Subtyp "d". Die "d"-Formen verliefen heftiger als die "y"-Formen, was sowohl biotisch als auch biochemisch nachgewiesen wurde. Alle Patienten mit einer Zirrhose und alle symptomlosen Träger hatten Subtyp "d". Eine Erklärung für diese Phänomene hat sich bis heute nicht gefunden und deshalb ist eine Prognose der einzelnen Hepatitis aufgrund dieser Tatsache nicht möglich.

2.2 Übertragungsmodus

Die Hepatitis A wurde von der Hepatitis B dadurch unterschieden, daß die Hepatitis A oral und fäkal übertragen wird, die Hepatitis B dagegen nur parenteral (32). Die mangelhafte Reinigung von kontaminierten Nadeln, chirurgischen oder zahnärztlichen Bestecken führte häufig zu einer Infektion (64). Ebenso wie die Transfusionshepatitis, die bis heute nicht eingedämmt werden konnte (33, 34), waren die endemischen Hepatitiden in den Dialysestationen gefürchtete Komplikationen (68, 69). Erst als nachgewiesen werden konnte, daß die Häufigkeit der Hepatitiden nicht mit der Anzahl der Transfusionen korrelierte, sondern mit der Aufenthaltsdauer in den Dialysestationen, wurden andere Übertragungsmöglichkeiten diskutiert (35).

a) Der Kontakt mit infizierten Personen

Untersuchungen an 15 Dialysezentren haben erbracht, daß 16 % der Patienten und 2,4 % des medizinischen Personals HB-Ag positiv waren. Antikörper konnten bei 34 % der Patienten und 31 % des Personals nachgewiesen werden (35). Allein der Kontakt mit solchen Personen kann zu einer Übertragung der Infektion führen. Angehörige dieser Patienten hatten bis zu 61 % HB-Ag oder Antikörper.

Eine größere Gefahr der Infektion besteht, wenn sexueller Kontakt zu einer HB-Ag positiven Person unterhalten wird. Dies wurde in mehreren Studien an Dermatologischen Kliniken nachgewiesen (37, 38, 39, 40). Patienten mit venerologischen Erkrankungen waren zu einem wesentlich höheren Prozentsatz HB-Ag positiv oder hatten Antikörper, als vergleichbare andere Personen. Das gleiche Ergebnis erbrachten Reihenuntersuchungen an Prostituierten (40) und epidemiologische Studien

in England (36, 37). Von 27 Patienten mit einer akuten Serum-hepatitis unterhielten 13 sexuelle Beziehungen zu Personen, die selbst einen Ikterus hatten, oder HB-Ag positiv waren. 12 Patienten standen in häuslichem Kontakt zu Personen, die eine Hepatitisanamnese hatten.

b) Orale und fäkale Übertragung

Der Grund für eine Übertragung innerhalb einer Wohngemeinschaft könnte darin liegen, daß auf oralem oder fäkalem Weg eine Infektion stattfindet. Nachforschungen innerhalb drei sozial unterschiedlichen Schichten in den USA haben gezeigt, daß in der niedrigsten sozialen Stufe am häufigsten HB-Ag oder spezifische Antikörper vorkamen (41). Wahrscheinlich findet hier eine Durchseuchung aufgrund mangelnder Hygiene statt, zumal in der Mundschleimhaut, in den Fäkalien und im Urin das Hepatitis B-Antigen nachgewiesen wurde (42, 43, 67). Eine familiäre Häufung war dabei zu beobachten, die Männer waren zu einem größeren Anteil HB-Ag positiv oder hatten Antikörper als die Frauen.

c) Übertragungsmodus bei Säuglingen

Nach den neuesten Forschungen gibt es zwei Möglichkeiten das HB-Ag auf Säuglinge zu übertragen. Ein Kind, das durch eine Sektio Caesarea von einer HB-Ag positiven Mutter entbunden wurde, hatte ein HB-Ag positives Serum. Es muß eine diaplazentare Infektion stattgefunden haben, da auch IgM erhöht war (45). Ein anderer Weg der Infektion besteht darin, daß die Säuglinge das Antigen mit der Muttermilch aufnehmen. Die Milch von infizierten Frauen enthält HB-Ag und kann damit eine Infektion mit dem Erreger auslösen (44).

d) Übertragung in den Tropen

Untersuchungen in ländlichen Gebieten Kenias ergaben, daß ein hoher Prozentsatz der Eingeborenen HB-Ag positiv waren (46). Sie hatten niemals zuvor Kontakt mit der Zivilisation. Männer waren durch alle Altersklassen hindurch häufiger betroffen als Frauen, am größten war die Beteiligung bei männlichen Jugendlichen zwischen 14 und 19 Jahren. Sicher spielt auch hier die orale und fäkale Übertragung eine Rolle, aber durch die große Anzahl der Insekten, die sich in solchen Gebieten aufhalten, wird auch darin eine Möglichkeit der Übertragung gesehen. Diskutiert wird die Übertragung des HB-Ag durch Moskitos und Tse-tse Fliegen. Bei Versuchen, in denen Moskitos HB-Ag haltiges Blut gegeben wurde, ließ sich nach der Blutmahlzeit aber das Antigen nicht mehr in den Tieren feststellen(48).

Dieses sind alles Übertragungsmöglichkeiten, die in der Diskussion stehen. Endgültig läßt sich darüber noch nichts aussagen, da zu viele Unsicherheitsfaktoren mit im Spiel sind. Sicher werden noch andere Übertragungsweisen dazukommen, da eine ganze Reihe von Hepatitiden beschrieben werden, bei denen sich keine Infektionsquellen nachweisen ließen.

3. Prophylaxe

Bei jeder Infektionskrankheit, sei sie durch Bakterien oder Viren ausgelöst, stellt sich die Frage der Verhütung durch aktive oder passive Immunisierung. Als besonderes Problem hat sich dieses bei der Serumhepatitis erwiesen, da eine Erkrankung keine Immunität hinterläßt. Es ist noch nicht gelungen, den Virus zu züchten und einen geeigneten Impfstoff herzustellen. Trotzdem gibt es einige Ansätze, aufgrund derer es doch einmal möglich sein wird, eine Immunisierung zu erreichen.

3.1 Aktive Immunisierung

a) Humoral

Krugmann und seine Mitarbeiter versuchten als Erste bei den Kindern der Willowbrock-School eine aktive Immunisierung. Sie spritzten ihnen nach einer Infektion mit dem Hepatitis B-Virus durch Hitze inaktiviertes Serum (21). Bei einigen Kindern erfolgte eine Antikörperbildung und ein gewisser Schutz, aber die Ergebnisse waren zu instabil um von einer aktiven Immunisierung sprechen zu können. Andere Versuche verliefen ebenso ergebnislos (22).

Eine neue Situation ergab sich nach der Entdeckung der Dane-Teilchen. Krugmann berichtet in einer neuen Veröffentlichung (25), daß die durch Hitze inaktivierten HB-Ag positiven Seren weder DNA-Polymerase noch Antikörper bildeten, und glaubt darin eine Möglichkeit für zukünftige Impfstoffe zu sehen.

b) Zellulär

Eine lymphozytäre, zelluläre Immunisation versuchte Gast in seinen Versuchen nachzuweisen (50). Er beschreibt eine Stimulation der Lymphozyten durch Hepatitis B - antigenhaltige Seren, im Gegensatz zu Kontrollpersonen. Es gelang auch bei dem Personal einer Leberklinik eine zellinduzierte Immunität nachzuweisen (61). Da diese nie eine klinisch relevante Infektion durchgemacht hatten, besteht vielleicht doch die Möglichkeit, daß geringe Dosen von HB-Ag zu einer immunologischen Antwort führen und damit ein Schutz vor Infektion erreicht werden kann.

3.2. Passive Immunisierung

Eine passive Immunisierung führte man mit Dosen von unspezifischen und spezifischen Gammaglobulin durch. Es wurde intravenös oder intramuskulär gegeben, um eine Prophylaxe der Serumhepatitis, insbesondere der Transfusionshepatitis zu erreichen (51, 52, 55). Amerikanischen Soldaten, die in Korea der dort endemischen Hepatitis B ausgesetzt waren, wurden unterschiedliche Dosen von Gammaglobulin gegeben (53, 54). Die Prophylaxe reichte vom totalen Schutz bis zur absoluten Wirkungslosigkeit, meist war jedoch eine abgeschwächte Hepatitis zu verzeichnen (56). Das gleiche Ergebnis sah man bei allen Versuchen, die mit Gammaglobulin gemacht wurden (51, 52, 55, 56). Von früheren Beobachtungen her weiß man, daß bland verlaufende Serumhepatitiden oft einen protrahierten Verlauf haben, oder in chronische Zustände übergehen. Aus diesem Grunde fragt man sich heute, ob die Gammaglobulinprophylaxe mehr Schaden verursacht, als daß sie von Nutzen ist (57, 58).

Spezifisches, hochtitriges Anti HB-Ag Serum wurde angeblich mit Erfolg bei Dialysepatienten eingesetzt. Von 19 Patienten die Immunglobulin bekamen, entwickelten 6 eine Hepatitis, während von 21 Patienten, die mit Placebos behandelt wurden, sich bei 12 eine Infektion nachweisen ließ (59).

II. Experimenteller Teil

Als 1971 der Radioimmunassaytest (RIA) entwickelt wurde, existierten bereits mehrere Tests zum Nachweis des Hepatitis B-Antigens. Vergleiche mit der Überwanderungselektrophorese (ÜWE), Komplementbindungsreaktion und dem Hämagglutinationstest ergaben, daß der RIA-Test wesentlich empfindlicher war, als die herkömmlichen Methoden (62). 1973 kam ein passiver Hämagglutinationstest (HÄM) in den Handel, der als Screeningtest angewandt werden konnte und falsch positive Ergebnisse durch ein Absorbens ausschaltete (63). Anhand von Verdünnungsreihen soll in dieser Arbeit die Empfindlichkeit der beiden Tests überprüft und in einem Vergleich ausgewertet werden.

Da dem Gammaglobulin eine Schutzwirkung bei der Hepatitis B zugeschrieben wird, wurden außerdem Versuche gemacht, die Neutralisation von Hepatitis B-haltigen Seren in einem in vitro Experiment nachzuweisen.

1. Material und Methode

Als Material wurden Hepatitis B-Antigen positive Seren verwendet, die durch die ÜWE als solche identifiziert worden waren. Von diesen wurden Verdünnungsreihen und zwar bis zu einer Verdünnung von 1:512.288 hergestellt. Für die ersten sieben Versuche diente 0,9 %ige Kochsalzlösung als Verdünnung, für die weiteren Versuche HB-Ag negatives Humanserum. Ab der 10. Versuchsreihe wurde vom selben HB-Ag positiven Serum eine Versuchsreihe mit Serumverdünnung und eine Versuchsreihe mit unspezifischem Gammaglobulin (Beriglobin^R) angefertigt.

Die ersten dreizehn Versuche wurden nach der Ausria I-Methode (Abbott) gehandhabt, bei dem das zu untersuchende Serum in ein Plastikröhrchen pipettiert wird, das mit Hepatitis B-Antikörpern von Meerschweinchen beschichtet ist. Das Serum wird 16 - 22 Stunden inkubiert und anschließend fünfmal mit TRIS-Puffer gewaschen. Dabei wird das Serum, das sich nicht mit dem Antikörper verbunden hat, ausgespült. Anschließend wird radioaktiv-markierter Antikörper dazugegeben und zwei Stunden inkubiert. Danach wird das Röhrchen erneut gespült und im Bohrlochzählgerät die Zahl der Impulse festgestellt.

Anhand dieser Impulsrate kann man feststellen, ob ein Serum positiv oder negativ ist. Der Grenzwert wird durch sieben negative und drei positive Kontrollen aus standardisierten Seren festgesetzt.

Nach den ersten dreizehn Versuchen wurden die weiteren Experimente nach der Ausria II-Methode (Abbott) gemacht, die eine größere Spezifität hat und eine Arbeitserleichterung darstellt. Anstatt der Röhrchen werden nun Kugeln verwendet, die mit menschlichen Antikörpern beschichtet sind. 0,02 ml des zu untersuchenden Serums werden auf die Kugel gebracht und im Wasserbad bei 45° C inkubiert. Anschließend wird die Kugel mit einer Pumpsaugvorrichtung umspült. Der weitere Versuchsverlauf gestaltet sich wie beim Ausria I-Verfahren.

Der passive Hämagglutinationstest (Hepanosticon) ist ein Screeningtest, bei dem Schafererythrozyten mit Formalin vorbehandelt und mit einer Schicht HB-Ag Antikörpern sensibilisiert wurden. Da bei diesem Test auch unspezifische Reaktionen auftreten, z.B. Forssmann Antikörper, Mononucleosis, werden die positiven Seren mit einem Absorbens vorbehandelt.

Dieses wird in lyophilisierter Form geliefert und in 10 ml Natriumchloridlösung aufgelöst. Jeweils 5 ml werden bei 1200 Umdrehungen zentrifugiert und der Überstand verworfen. Dann werden 0,001 ml des zu untersuchenden Serums inkubiert und mit 0,01 ml NaCl aufgefüllt. Anschließend wird gut geschüttelt und eine Stunde lang bei 37° C inkubiert. Nach wiederholtem Schütteln wird das Reaktionsgemisch 16 - 20 Stunden bei 3° C aufbewahrt. Zur weiteren Verarbeitung pipettiert man 0,3 ml Kochsalzlösung dazu und zentrifugiert 15 Minuten bei 1200 Umdrehungen. Der Überstand wird mit Pasteurpipetten in Sedimentationsröhrchen übertragen und damit der eigentliche Test durchgeführt. 100 µl des Reagenz, das ebenfalls in lyophilisierter Form geliefert wird und in 2,1 ml gelöst wird, werden zu dem Überstand pipettiert. Nach 2 - 3 Stunden erfolgt die Ablesung. Bei einem negativen Befund erfolgt ziemlich rasch eine Sedimentation der Erythrozyten, die sich in einer scharfen Ringbildung zeigt. Agglutinieren die Erythrozyten so bleibt der Boden des Sedimentationsröhrchens homogen und der Befund ist positiv.

2. Ergebnis

Der Vorteil der RIA Methode besteht darin, daß man mit Hilfe der Impulsraten eine Zunahme oder Abnahme der Aktivität feststellen kann, die einen Hinweis darauf gibt, wieviel Antigen sich in der untersuchten Probe befindet, während der Hämagglutinationstest entweder positiv oder negativ ist. Das Serum wird beim RIA-Test eine Minute lang ausgezählt und die resultierende Impulszahl ausgewertet.

2.1 Vergleich Hämagglutinationstest / Kochsalz und Ausria I / Kochsalz

Die ersten sieben Versuche wurden mit einer Kochsalzverdünnung durchgeführt, und zwar bis zu einem Titer von

1:512.288, das entspricht 20 Verdünnungsstufen. Zu erwarten war, daß im RIA-Testverfahren mit jeder Verdünnung eine lineare Abnahme der Impulse sichtbar wird. Das hat sich nicht bestätigt. Bei fünf von sieben Versuchsreihen war eine Aktivitätszunahme zum unverdünnten Serum erkennbar. Wenn z.B. ein Serum mit 2.400 Impulsen positiv war, steigerte sich die Impulsrate bis zur sechsten Verdünnung auf 4.300 Impulse. Bei einem anderen Beispiel war das Ausgangsserum mit 4.600 Impulsen positiv und steigerte sich bis zur fünften Verdünnung auf 9.400 Impulse (s. Abbildung 1). Man konnte im Durchschnitt bis zur 7. Verdünnungsstufe, das entspricht einem Titer von 1:64 eine Zunahme der Impulse feststellen und dann erfolgte ab einem Titer von 1:122 die lineare Abnahme.

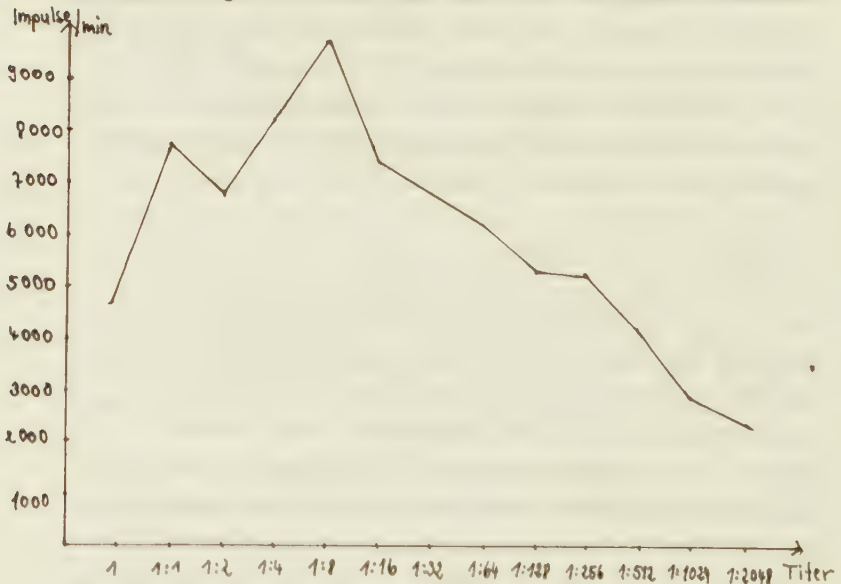


Abb. 1 Charakteristische Kurve, die die Aktivitätszunahme der Seren im RIA-Test bei der Verdünnung mit 0,9 % Kochsalzlösung zeigt.

Nur bei zwei Seren war eine relativ lineare Abnahme zu sehen. Das eine Serum war mit 5 530 Impulsen positiv und das zweite mit 2 300 Impulsen. Es läßt sich daher auch nicht sagen, daß die Ausgangsimpulszahl entscheidend ist, wie die Seren reagieren, da Seren mit niedriger Ausgangsimpulszahl das gleiche Verhalten zeigten, wie Seren mit hoher Ausgangsimpulszahl. Einerseits zeigten sie einen Titeranstieg, andererseits einen linearen Abfall.

Im Vergleich HÄM/RIA-Test waren beim HÄM-Test in sieben Versuchsreihen 53 Verdünnungen positiv, das sind im Durchschnitt acht Verdünnungsstufen pro Versuchsreihe und entspricht einem positiven Ergebnis bis zu einem Titer von 1:128. Beim Ausria I-Verfahren waren es 88 Verdünnungen, davon im Durchschnitt 12 pro Versuchsreihe, das entspricht einem positiven Ergebnis bis zu einem Titer von 1:2 048 (siehe Tab. 1)

	HÄM/NaCl	RIA/NaCl
Mittelwert aus der Zahl der positiven Verdünnungsstufen und entsprechender Titer pro Versuchsreihe	8 = 1:128	12 = 1:2 048

Tabelle 1

Aus dieser Tabelle wird ersichtlich, daß im Ausria I-Verfahren im Durchschnitt vier weitere Verdünnungsstufen positiv reagierten. Der Ausria I-Test ist in dieser Versuchsreihe wesentlich empfindlicher als der HÄM-Test.

2.2 Vergleich HÄM/Serum und Ausria I/Serum

Bei den folgenden Versuchen diente Hepatitis B-Antigen negatives Humanserum als Verdünnung. Dabei waren die Ergebnisse im RIA-Verfahren wesentlich stabiler, als bei der Verdünnung mit Kochsalzlösung. Bei fünf von sechs Versuchsreihen erfolgte mit jeder Verdünnungsstufe eine Abnahme der Impulse (siehe Abb. 2).

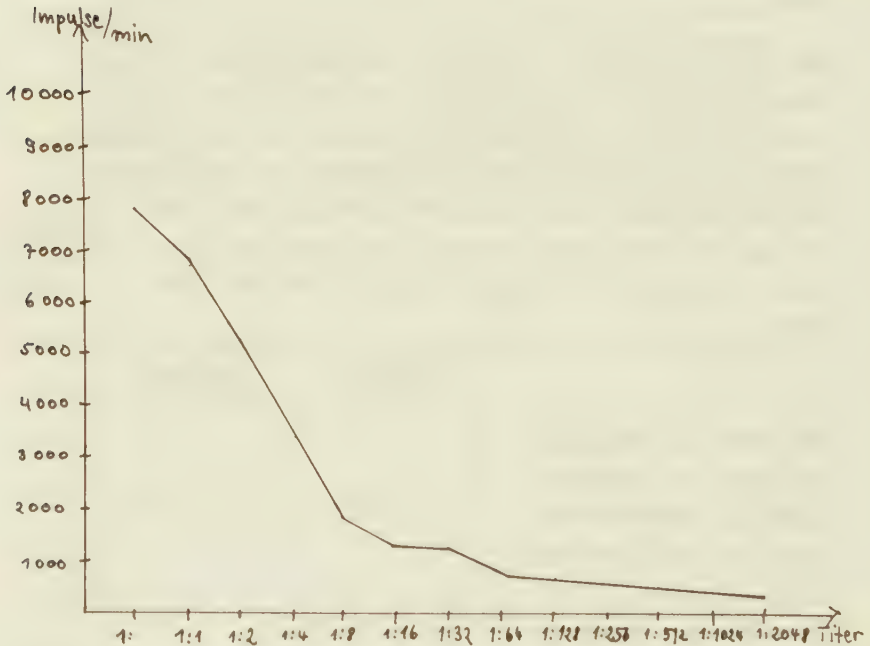


Abb. 2 Charakteristische Kurve, die die lineare Abnahme der Impulse bei der Verdünnung der Proben mit Humanserum zeigt.

Die Ausgangsimpulsraten erstreckten sich von 4 000 bis 8 000 Impulsen, sodaß sich hierin kein Anhalt für die Linearität der Abnahme ergibt. Lediglich ein Serum, das mit 14 000 Impulsen reagierte, zeigte sich in seinem Verhalten instabiler. Erst nach acht Verdünnungsstufen zeichnete sich ein linearer Abfall ab. Dieses Ergebnis kommt dadurch zustande, daß sich in diesem hohen Impulsbereich soviel Antigen im Serum befindet, daß auch noch nach mehreren Verdünnungsstufen alle Antikörper besetzt werden. Erst wenn das Serum soweit verdünnt ist, daß sich weniger Antigen als Antikörper darin befindet, kommt es zu einem linearen Abfall.

Im HÄM-Test reagierten insgesamt 41 Verdünnungen positiv, d.s. im Durchschnitt sieben Verdünnungsstufen pro Versuchsreihe und entspricht einem positiven Ergebnis bis zu einem Titer von 1:64. Im RIA-Verfahren waren 62 Verdünnungsstufen positiv, d.s. zehn pro Versuchsreihe und entspricht einem positiven Ergebnis bis zu einem Titer von 1:512 (s. Tab. 2).

	HÄM/Serum	RIA/Serum
Mittelwert aus der Zahl der positiven Verdünnungsstufen und entsprechender Titer pro Versuchsreihe	7 = 1:64	10 = 1:512

Tabelle 2

Der RIA-Test war um drei Verdünnungsstufen länger positiv als der HÄM-Test. Man kann daran sehen, daß die Ergebnisse sich etwas ausgeglichen haben. Der Unterschied zwischen RIA-Test und HÄM-Test beträgt nur noch drei Verdünnungsstufen, im Vergleich zur NaCl Verdünnung, bei der es noch vier Stufen

waren. Die Ergebnisse sind im RIA-Test im Durchschnitt nur noch bis zu einem Titer von 1:512 positiv, und im HÄM-Test bis zu einem Titer von 1:64, d.s. eine bzw. zwei Verdünnungsstufen weniger als bei der Verdünnung mit Kochsalzlösung.

Die Impulszahlen im RIA korrelierten in keiner Weise mit den positiven Reaktionen im HÄM-Test. Ein Serum, das im RIA unverdünnt mit 8 000 Impulsen reagierte, war im HÄM-Test bis zur sechsten Verdünnungsstufe positiv. Dagegen agglutinierte ein Serum bis zur achten Verdünnungsstufe, das im RIA eine Ausgangsimpulsrate von 2 200 hatte. Die Ausgangsimpulsraten spielen in Bezug auf die Reaktionen im HÄM-Test keine Rolle, da sich in keinem der Ergebnisse eine Übereinstimmung nachweisen ließ.

2.3 Vergleich HÄM/Serum und Ausria II/Serum.

Bei elf Versuchsreihen, die nach dem Ausria II-Verfahren gehandhabt wurden, konnte ein Anstieg der Impulsraten bei acht Versuchen beobachtet werden. Dieser zeigte sich durchschnittlich bis zur vierten Verdünnungsstufe. Es waren ausschließlich solche Seren, die mit ihrer Impulszahl bei 10 000 und mehr Impulsen lagen. (s. Abb. 3).

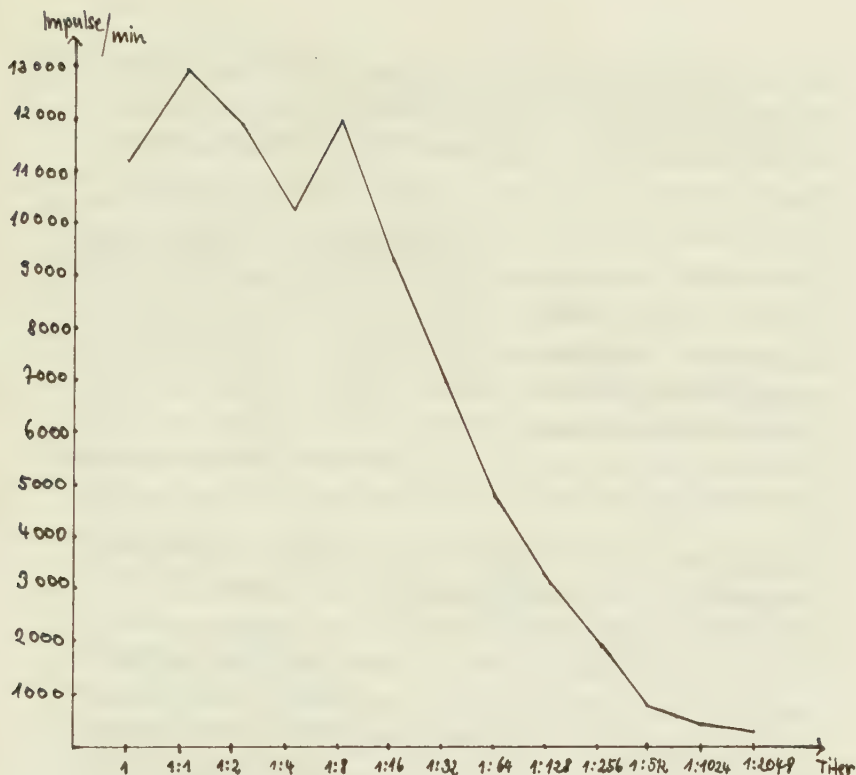


Abb. 3 Aktivitätssteigerung bei Seren mit hoher Impulszahl im Ausria II-Verfahren.

Kurven, die einen relativ linearen Abfall zeigten, waren mit 7 000 bis 8 000 Impulsen positiv. Diese Seren mit hoher Impulszahl bleiben aber meist nicht länger positiv als Seren mit niedrigerer Rate, sondern fallen dann innerhalb zwei oder drei Verdünnungsstufen auf negative Werte ab (s. Abb. 3). Innerhalb der elf Versuchsreihen waren im RIA-Test insgesamt 122 Verdünnungen positiv, d.s. elf Proben pro Versuchsreihe

und entspricht einem positiven Ergebnis bis zu einem Titer von 1:1 024. Beim HÄM-Test agglutinierten 72 Seren, d.s. sieben Verdünnungsstufen pro Versuchsreihe und ist einem positiven Ergebnis bis zu einem Titer von 1:64 äquivalent (s. Tab. 3).

	HÄM/Serum	AusriaII/Serum
Mittelwert aus der Zahl der positiven Verdünnungsstufen und entsprechender Titer pro Versuchsreihe	7 = 1:64	11 = 1:1 024

Tabelle 3

Anhand dieser Tabelle sieht man, daß im RIA-Test vier Verdünnungsstufen mehr positiv reagierten. Der Abstand von Ausria II zum HÄM-Test hat sich um eine Verdünnungsstufe vergrößert. Der Ausria II-Test reagierte damit also empfindlicher als der Ausria I-Test. Auch bei diesem Vergleich ließ sich keine Relation zwischen der Impulszahl beim RIA-Verfahren und dem Verhalten des HÄM-Testes aufstellen. Manchmal fiel der HÄM-Test bei einer Impulszahl von 2 000 Impulsen noch positiv aus und zeigte dagegen beim nächsten Versuch bei 5 000 Impulsen keine Agglutination mehr. Man kann also die Impulszahl und die dazu gezeigte Reaktion im HÄM-Test in keine Beziehung zueinander setzen.

2.4 Vergleich zwischen Ausria I und Ausria II

Im Vergleich zum Ausria I-Verfahren gestalteten sich die Ergebnisse im Ausria II-Verfahren instabiler. Ein linearer Abfall konnte im Ausria I-Verfahren mehr als doppelt so häufig beobachtet werden, als im Ausria II-Verfahren. Allerdings waren auch die Seren, die im Ausria II-Verfahren verwendet wurden, mit einer wesentlich höheren Ausgangsimpuls-

zahl positiv als die Seren, die beim Ausria I-Verfahren verwendet wurden. Dieser hohe Antigen-Gehalt der Seren verursacht wie auf Seite 19 beschrieben den instabilen Kurvenverlauf.

Nach der Ausria I-Methode reagierten 62 Seren in sechs Verdünnungsreihen positiv, d.s. im Durchschnitt zehn Verdünnungsstufen pro Versuchsreihe und entspricht einem positiven Ergebnis bis zu einem Titer von 1:512. Im Ausria II-Verfahren gelang es 122 positive Verdünnungsstufen in elf Versuchsanordnungen nachzuweisen, d.s. elf Proben pro Versuchsreihe und mit einem positiven Ergebnis bis zu einem Titer von 1:1 024 identisch. Die Seren im Ausria II-Verfahren sind um eine Verdünnungsstufe länger positiv als im Ausria I-Test (s. Tab. 4).

	Ausria I/Serum	Ausria II/Serum
Mittelwert aus der Zahl der positiven Verdünnungsstufen und entsprechender Titer pro Versuchsreihe	10 = 1:512	11 = 1:1 024

Tabelle 4

Der Ausria II-Test reagierte etwas empfindlicher als der Ausria I-Test.

2.5 Vergleich zwischen Ausria I/Serum und Ausria I/Gammaglobulin

In dieser Versuchsreihe wurde aus dem gleichen HB-Ag positiven Serum eine Verdünnungsreihe mit HB-Ag negativem Humanserum und eine zweite mit unspezifischem Gammaglobulin hergestellt, um einen neutralisierenden Effekt des Gammaglobulins nachzuweisen. Dabei reagierten bei der Serumverdünnung

in vier Versuchsreihen 41 Verdünnungsstufen positiv, in der Gammaglobulinverdünnung 37. Pro Verdünnungsreihe waren sie in der Serumverdünnung bis zu einem Titer von 1:512 positiv, während sie in der Verdünnung mit Gammaglobulin bis zu einem Titer von 1:256 positiv reagierten (s. Tab. 5).

	Ausria I/Serum	Ausria II/ Gammaglobulin
Mittelwert aus der Zahl der positiven Verdünnungs- stufen und entsprechender Titer pro Versuchsreihe	10 = 1:512	9 = 1:256

Tabelle 5

In der Gammaglobulinverdünnung war im Durchschnitt eine Verdünnungsstufe weniger positiv. Dieser Versuch konnte nicht länger durchgeführt werden, da das Verfahren von Ausria I auf Ausria II umgestellt wurde. Aus diesem Grunde ist die Versuchsbreite nicht sehr groß. Meist liegen die Kurven parallel. In einem Versuch war die Gammaglobulinverdünnung länger positiv, als die Versuchsreihe mit Humanserum. Ein schnellerer Abfall auf negative Werte ließ sich nicht feststellen. Bei gleicher Verdünnungsstufe reagierten die Seren der Gammaglobulinreihe oft mit einer höheren Impulszahl (s. Abb. 5).

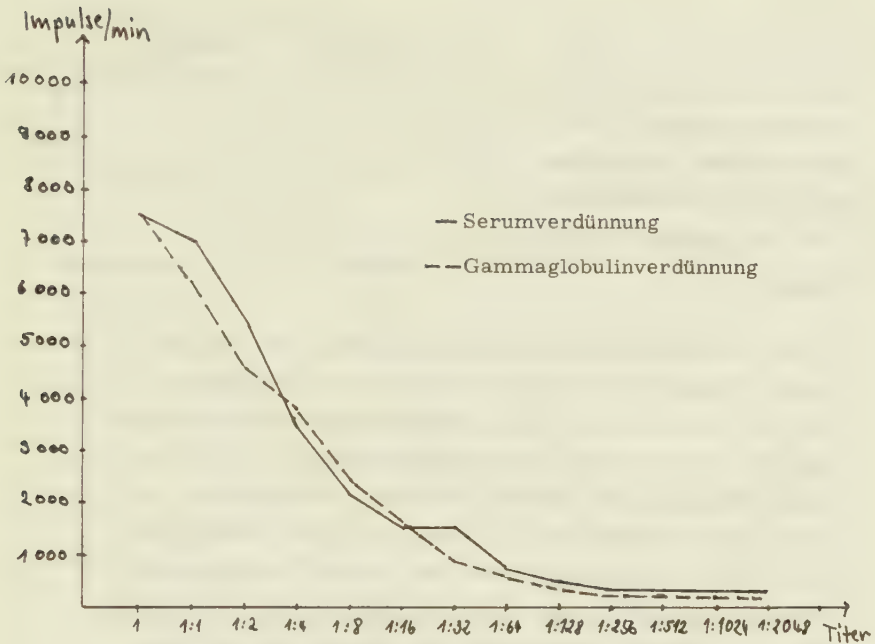


Abb. 5 Charakteristische Kurve, die das Verhalten der Seren bei Gammaglobulin- und Serumverdünnung zeigt.

2.6 Vergleich Ausria II/Serum und Ausria II/Gammaglobulin

In dieser Reihe gelang es eine größere Versuchsbreite herzustellen, die aber ein ähnliches Verhalten zeigte wie schon im Ausria I-Verfahren festgestellt wurde. Dabei verschob sich die Relation bei der Gammaglobulinverdünnung von neun auf elf positive Verdünnungen pro Versuchsreihe und reagierte damit äquivalent zur Serumverdünnung. Insgesamt waren in beiden Versuchen 122 Verdünnungsstufen positiv, was einem positiven Ergebnis bis zu einem Titer von 1:1 024 entspricht (s. Tab. 6).

	Ausria II/Serum	Ausria II/ Gammaglobulin
Mittelwert aus der Zahl der positiven Verdünnungs- stufen und entsprechender Titer pro Versuchsreihe	11 = 1:1 o24	11 = 1:1 o24

Tabelle 6

Es läßt sich keine Gesetzmäßigkeit aufstellen, wie sich die Seren verhalten, die mit Gammaglobulin inkubiert wurden. Bei vier Versuchsreihen lagen die Gammaglobulinverdünnungen insgesamt höher als bei der Serumverdünnung. Bei fünf Versuchsreihen lagen sie darunter oder liefen parallel dazu. In einigen Experimenten zeigte sich ein schnellerer Abfall nach den einzelnen Verdünnungsstufen, die aber im Endeffekt nicht relevant waren, weil sich in beiden experimentellen Versuchen gleich viel positive Verdünnungsstufen zeigten. Es war auch kein Unterschied in der Reaktion bei Seren mit hoher mit niedriger Ausgangsimpulszahl festzustellen, da in jedem Fall die Impulszahlen der Verdünnung mit Serum und der Verdünnung mit Gammaglobulin bei den entsprechenden Verdünnungsstufen fast identisch waren. Man könnte die beiden Versuchsreihen beliebig gegeneinander austauschen. Eine Neutralisation läßt sich auf Grund dieser in vitro Ergebnisse sicher nicht feststellen.

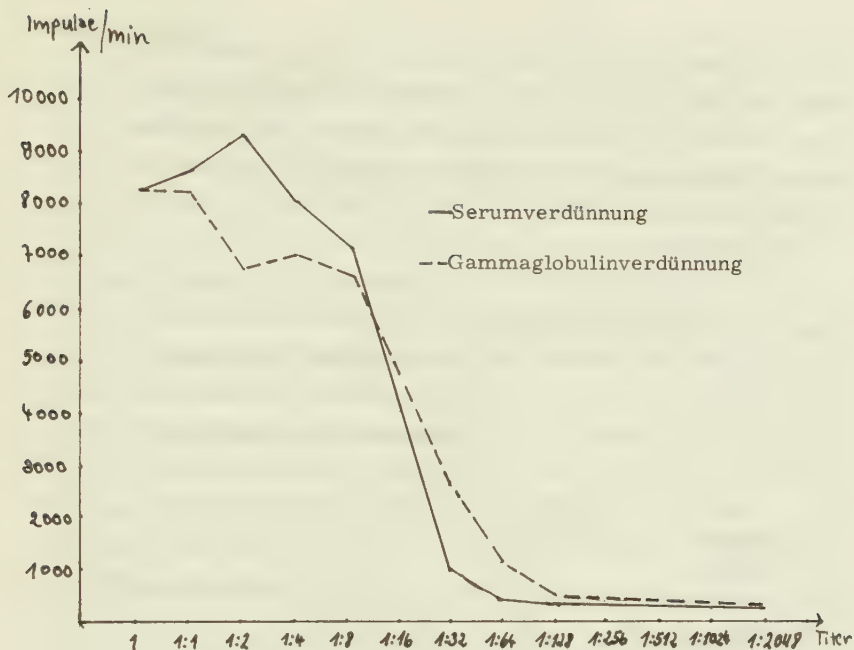


Abb. 6 Charakteristisches Verhalten zweier Verdünnungsreihen

Diese Abbildung zeigt das charakteristische Verhalten der Seren, die mit Gammaglobulin inkubiert wurden. Zuerst verläuft die Kurve mit geringerer Impulszahl parallel zur Serumverdünnung, zwischen der fünften und sechsten Verdünnungsstufe überschneidet sie die Kurve und läuft dann mit größerer Impulszahl parallel dazu. Die Zahl der Impulsunterschiede ist insgesamt gesehen sehr gering.

In der abschließenden Tabelle werden alle Ergebnisse einander gegenübergestellt (s. Tabelle 7). Dabei wird deutlich, daß zwischen dem HÄM-Test und dem RIA-Test ein Unterschied von drei bis vier Verdünnungsstufen besteht. Am längsten positiv reagierte der Ausria I-Test mit der NaCl Verdünnung, während bei der Serumverdünnung der Ausria II-Test empfind-

licher als der Ausria I-Test reagierte. Bei der Verdünnung mit Gammaglobulin zeigte sich im Ausria II-Verfahren kein Unterschied zur Serumverdünnung, während im Ausria I-Test die Verdünnungsreihen mit Humanserum eine Stufe länger positiv reagierten.

	Mittelwert aus der Zahl der positiven Verdünnungs- stufen und entsprechender Titer pro Versuchsreihe
HÄM/Serum	7 = 1 : 64
HÄM/NaCl	8 = 1 : 128
Ausria I/NaCl	12 = 1 : 2 048
Ausria I/Serum	10 = 1 : 512
Ausria II/Serum	11 = 1 : 1 024
Ausria I/Gammaglobulin	9 = 1 : 256
Ausria II/Gammaglobulin	11 = 1 : 1 024

Tabelle 7

3. Diskussion

In der Verdünnung mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung waren die Ergebnisse sehr instabil. Es zeigte sich eine Steigerung der Aktivität in den einzelnen Verdünnungen bis zur vierten oder fünften Verdünnungsstufe, die sich eigentlich nicht erklären läßt. Diese Aktivitätssteigerung hat sich auch in anderen Versuchen bestätigt. Da das Hepatitis B-Antigen eine bemerkenswerte Heterogenität besitzt, ist es möglich, daß sich durch Kochsalz bestimmte Teilchen aktivieren lassen, was sich dann im Ergebnis niederschlägt. Alle diese Seren besaßen eine hohe Titrierfähigkeit und reagierten bis zu einem Titer von 1:1 024 oder 1:16 000 positiv. Oft war das Ergebnis auch davon abhängig, wie gründlich die Röhrchen gespült wurden, aber selbst durch erneutes Spülen trat keine Änderung im Reaktionsergebnis in diesen Fällen ein.

Bei der Verdünnung mit Humanserum waren die Ergebnisse im Ausria I-Verfahren stabiler. Bei allen Seren wurde eine relativ lineare Abnahme verzeichnet, die sich über zehn Verdünnungsstufen erstreckt. Die Ausgangsimpulsraten lagen zwischen 4 000 und 8 000 Impulsen. Eine Art Sättigung scheint dann einzutreten, wenn die Seren mit 10 000 und mehr Impulsen positiv reagierten. Durch den hohen Antigengehalt des Serums werden auch noch nach einigen Verdünnungsstufen alle Antikörper besetzt und bewirkt diese hohen Impulszahlen auch noch nach vier oder fünf Verdünnungsstufen. Erst wenn weniger Antigen als Antikörper vorhanden ist, läßt sich ein Verdünnungseffekt nachweisen und es kommt zu einer linearen Abnahme.

In der Spezifität zwischen dem Ausria I- und Ausria II-Verfahren war kein großer Unterschied zu verzeichnen. Wahrscheinlich war auch die Versuchsbreite zu gering um hier eine treffende Aussage zu machen. Sowohl im Ausria I- wie auch im Ausria II-

Verfahren hat es sich herausgestellt, daß die Impulszahl nur eine sehr vage Auskunft darüber gibt, wieviel Antigen sich in dem jeweiligen Serum befindet. Von zwei Seren, die mit 4 000 Impulsen reagierten, zeigte sich das eine Serum bis zu einer Verdünnung von 1:2 048 positiv, und das zweite bis zu einer Verdünnung von 1:32. Ein anderes Beispiel bewies, daß zwei Seren bis zur gleichen Verdünnungsstufe positiv waren, von denen das eine unverdünnt mit 8 000 Impulsen reagierte, und das andere mit 2 200 Impulsen. Anhand dieser Versuche wird deutlich, daß der Titer nicht immer mit der Impulszahl korreliert. Die Impulsrate hat also keinerlei Aussagebedeutung. Es sollten aus diesem Grunde immer Verdünnungsreihen angefertigt werden, wenn die Infektiosität eines Serums zur Diskussion steht. Das ist auch der Grund, warum die Reaktionen im HÄM-Test nicht identisch waren, oder so stark mit der Impulszahl variierten wie auf Seite 19 und 23 beschrieben.

Der HÄM-Test war umso länger positiv, je länger positiv das Serum im RIA-Test war. Ab einer gewissen Verdünnungsstufe läßt die Empfindlichkeit nach, das war meist bei einem Titer von 1:256 bei hochtitrigen Seren. Bei weniger infektiösen Seren war der HÄM-Test fast so empfindlich wie der RIA-Test und unterschied sich meist nur um eine Verdünnungsstufe, während bei hochtitrigen Seren es im Durchschnitt fünf Verdünnungsstufen waren. Insgesamt gesehen war der RIA-Test empfindlicher als der HÄM-Test und wies sich auch durch eine größere Spezifität aus. Von allen Seren, die kontrolliert wurden, war keines im RIA-Verfahren über einen Titer von 1:16 000 und im HÄM-Test über 1:512 positiv. In einer Studie ist ein positiver Hämmagglutinationstest bis zu einer Verdünnung von 1:520 000 beschrieben, dieses Ergebnis hat sich in dieser Arbeit in keinem Fall bestätigt (63).

Außerdem ist die Frage zu diskutieren, ob die im RIA-Test in hohen Verdünnungen noch positiven Seren wirklich infektiös sind, oder ob es falsch positive Ergebnisse sind, bedingt durch die Empfindlichkeit des Testes. Im Verlauf einer Studie wurde in Kalifornien Patienten Blut transfundiert, das in der Überwanderungselektrophorese negativ, im RIA- oder passiven HÄM-Test positiv war. Die Seren, die eine Hepatitis auslösten oder nicht, entsprachen in ihrem Resultat eher dem HÄM-Test als dem RIA-Test. Hier beliefen sich die falsch positiven Ergebnisse auf 52 % (65).

Da nach den neuesten Forschungsergebnissen sich das HB-Ag aus drei unterschiedlichen Partikeln zusammensetzt, weiß man nicht, welches Teilchen sich im RIA-Test mit dem Antikörper verbindet und das Ergebnis bestimmt. Da aber aller Wahrscheinlichkeit nach die Dane-Teilchen das infektiöse Agens sind, könnte das eine Erklärung für die falsch positiven Ergebnisse sein. Das gleiche Problem besteht auch für den HÄM-Test. Daß hier die Ergebnisse in der Studie besser übereinstimmen, liegt entweder an der geringeren Empfindlichkeit des Testes, oder es werden hauptsächlich Dane-Teilchen gebunden.

Der passive HÄM-Test ist als Screeningtest für Reihenuntersuchungen und als Nachweistest mit dem Absorbens eine Alternative zum RIA-Test. Er ist zwar nicht so empfindlich wie der RIA-Test, aber aussagekräftiger als die Überwanderungselektrophorese und die Immundiffusion. Ein Vorteil des HÄM-Testes besteht darin, daß das Arbeiten mit radioaktivem Material wegfällt, da dieses sicher ein Hindernis für manche Labors darstellt.

In dieser Studie hat sich in keinem Fall eine neutralisierende Wirkung des Gammaglobulins nachweisen lassen. In einzelnen Versuchen hat zwar eine Verdünnungsstufe früher eine Neutralisation eingesetzt, dafür war in anderen Versuchsreihen eine verlängerte Aktivität zu verzeichnen. Außerdem kann man nicht von einem neutralisierenden Effekt sprechen, wenn erst bei einer Verdünnung von 1:4 096 eine Neutralisation eintritt. Auf alle Versuchsreihen bezogen, hat sich keine Wirkung nachweisen lassen, unabhängig davon, ob das Serum eine hohe Titrierfähigkeit besaß oder nicht. Am deutlichsten zeigt das der Verlauf der Kurven mit Serum- und Gammaglobulinverdünnung, da diese meist parallel liefen. Diese Aussage stützt sich nur auf das in vitro Experiment. Ob in vivo eventuell doch eine neutralisierende Wirkung vorhanden ist, läßt sich nicht sicher ausschließen.

III. Zur Kasuistik der Hepatitis-B-positiven Tropenrückkehrern

Am Institut für Infektions- und Tropenmedizin in München wird der Gesundheitszustand von Personen, die aus den Tropen zurückkehren, überprüft. Da in früheren Studien berichtet wurde, daß HB-Ag positive Träger in tropischen Gebieten häufiger vorkommen als bei uns (46, 47), wird bei diesen Routineuntersuchungen das HB-Ag nach der RIA-Methode regelmäßig bestimmt.

Im Laufe des Jahres 1974 wurde bei 1 018 Tropenrückkehrern das HB-Ag bestimmt. Davon hatten 13 einen positiven Befund, d.s. bei 1 018 Untersuchungen 1,3 %. In Westeuropa sind 0,1 % der Bevölkerung HB-Ag Träger.

Da sich die meisten Patienten schon seit Jahren in den Tropen aufhalten, war es nicht möglich festzustellen, ob schon vor der Ausreise ein positiver Befund bestand, da erst seit dem Oktober 1973 das HB-Ag am Tropeninstitut bestimmt wird.

V.CH. Die Patientin hält sich mit ihren Eltern seit zwei Jahren in Saudi-Arabien auf. Sie hat als einzige der Familie einen HB-Ag positiven Befund und es konnte anamnestisch kein Anhalt für eine erlebte oder bestehende Hepatitis erfragt werden. Klinisch ergaben normale Transaminasen eine unauffällige Elektrophorese und ein Bilirubin im Bereich der Norm keinen Hinweis für eine bestehende Hepatitis.

P.Th. Die zweite Patientin lebte sechs Jahre in Mittel- und Südamerika, dann ein Jahr in Hongkong und seit 1970 im Iran. Außer gelegentlichen Darrrhöen hatte sie keine allgemeine Beschwerden. Der positive HB-Ag Befund ließ keinen Rückschluß auf eine Hepatopathie zu, da alle anderen Werte unauffällig waren. Ihr Mann ist HB-Ag negativ.

W.G. Dieser Patient lebte zwei Jahre lang in Indonesien, zuvor hielt er sich mehrere Jahre in Senegal, Äthiopien und Saudi-Arabien auf. Er hatte ein leicht erhöhtes Bilirubin aber normale Transaminasen und eine im Bereich der Norm liegende Elektrophorese. Auch bemerkte er keine Beeinträchtigung seines Allgemeinbefindens.

K.W. K.H. K.E. Bei den folgenden drei Patienten gelang es ebenso wenig wie bei den vorhergehenden eine bestehende oder durchgemachte Hepatitis klinisch oder anamnestisch nachzuweisen. Ein Patient arbeitete nur drei Monate als Kameramann in Ostafrika, während sich die anderen Patienten schon seit acht bzw. seit zehn Jahren in den Tropen aufhielten. Ihre Familienangehörigen wiesen einen HB-Ag negativen Befund auf.

F.H. R.R. Diese zwei Patienten arbeiteten in Algerien bzw. im Irak. Außer dem HB-Ag positiven Befund wurde bei ihnen eine Amöbiasis nachgewiesen. Aus diesem Grund war bei ihnen eine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens zu verzeichnen. Die Leberwerte und die Elektrophorese entsprachen der Norm, allerdings konnte bei einem Patienten ein leichter Ikterus in Erfahrung gebracht werden, die aber vor seiner Ausreise in die Tropen lag. Hier besteht die Möglichkeit, daß eine leichte Hepatitis-Infektion stattgefunden hat, von der ein positiver Befund zurückgeblieben ist.

C.S. Diese Patientin, die ein Jahr lang in Hongkong wohnte, gab an 1971 an einer Hepatitis erkrankt zu sein. Sie hatte eine beschleunigte BKS, aber normale Transaminasen und Bilirubin, doch ist der Verdacht auf eine chronisch persistierende Hepatitis gegeben. Der letzte Patient arbeitete mehrere Jahre in Südamerika und hatte keinerlei Beschwerden, die für eine Hepatitis typisch sind. Auch die klinischen Ergebnisse gaben keinen Anhalt für eine Hepatopathie.

Die drei folgenden Patienten sind in den Tropen geboren und leben seit einiger Zeit in Deutschland. Sie wurden wegen Malariaverdacht oder anderen tropischen Krankheiten am Institut untersucht.

K.B. Der erste Patient stammte von der Elfenbeinküste und studiert seit sechs Jahren in Deutschland. Bei ihm wurde eine akute Hepatitis diagnostiziert, die aber ihren Ursprung sicher nicht im Herkunftsland des Patienten hat, da dieser schon seit sechs Jahren in Deutschland wohnt.

E.J. Der folgende Patient wurde in Nigeria geboren und lebte bis kurz vor seiner Untersuchung dort. Er ist seit fünf Jahren an Malaria erkrankt und es wurde noch eine Amöbiasis festgestellt. Sein HB-Ag positiver Befund veranlaßte ihn als symptomlosen Träger einzustufen, da sich sonst kein Anhalt für eine Hepatitisinfektion ergab.

B.M. Dieser Patient, der aus Tunesien stammte, hatte seit seiner Ankunft leicht erhöhte Transaminasen und war HB-Ag positiv. Subjektive Beschwerden in Form einer druckschmerzhaften Leber oder andere Symptome einer Hepatitis konnten bei ihm nicht eruiert werden. Wahrscheinlich besteht eine chronisch aggressive Hepatitis aufgrund einer stummen Infektion.

Von dreizehn Personen, die im RIA-Test positiv reagierten, können drei ausgeschlossen werden, da die Infektion mit großer Wahrscheinlichkeit nicht durch den Aufenthalt in den Tropen ausgelöst wurde. Die verbleibenden zehn Personen sind als symptomlose Träger einzustufen, da sich bei ihnen kein Anlaß für eine Hepatitis ergab. Es sind also 1 % der Tropenrückkehrer HB-Ag positiv, d.i. ein zehnfach höherer Prozentsatz als im Durchschnitt in der Bevölkerung Westeuropas vorkommt. Die Exposition und die Gefahr der Ansteckung

ist in tropischen Gebieten doch wesentlich erhöht, vielleicht bedingt durch mangelhafte hygienische Bedingungen. Bemerkenswert ist noch, daß sich in allen Familien nur ein Familienmitglied infiziert hat. Auch die Aufenthaltsdauer spielt keine Rolle, da ein Patient nur drei Monate im Ausland war. Es konnte auch keine Häufigkeitsverteilung auf bestimmte Länder nachgewiesen werden, da sich die meisten Patienten in mehreren Ländern aufgehalten hatten, und es nicht möglich war die Infektionsquelle zurückzuverfolgen.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Arbeit gliedert sich in drei Teile. Der erste Teil bringt eine Zusammenfassung der Literatur über das Hepatitis-B-Antigen. Anhand dieser kann man feststellen, daß in letzter Zeit große Fortschritte in der Hepatitisforschung gemacht wurden, besonders auf dem Gebiet der Virologie.

Im experimentellen Teil sollten der Radioimmunassay- und der Hämagglutinationstest gegenübergestellt werden und ihre Empfindlichkeit im Nachweis des Hepatitis-B-Antigens untersucht werden. Dabei stellte sich heraus, daß der RIA-Test in allen Versuchsreihen empfindlicher, d.h. in wesentlich höheren Verdünnungsstufen noch positiv reagierte als der HÄM-Test. Ein weiteres Ergebnis war, daß die Impulszahl einer untersuchten Probe keine Aussage darüber zuläßt, wieviel Antigen sich in dem betreffenden Serum befindet. Seren mit mittlerer Ausgangsimpulszahl (7 000 - 8 000 Impulse) waren oft bis zur gleichen Verdünnungsstufe positiv wie Seren mit hohen Ausgangsimpulsraten (10 000 - 14 000 Impulse). Ein zweites Ziel der experimentellen Arbeit bestand darin, eine neutralisierende Wirkung des Gammaglobulins auf HB-Ag positive Seren nachzuweisen. Da Gammaglobulin häufig zur Prophylaxe der Serumhepatitis verwendet wird, sollte damit der Versuch unternommen werden, dies auch in vitro nachzuvollziehen. In zwanzig Versuchsreihen, in denen statt HB-Ag negativem Humanserum unspezifisches Gammaglobulin zur Verdünnung verwendet wurde, ließ sich in keinem Fall eine Neutralisation nachweisen. Oft lagen sogar die Impulszahlen bei der Verdünnung mit Gammaglobulin über den der Verdünnung mit Humanserum.

Im dritten Teil wurde eine kasuistische Studie über die Häufigkeit von Hepatitis-B-Antigen bei Tropenrückkehrern angefertigt. Dabei waren bei den Tropenrückkehrern prozentual mehr Personen HB-Ag positiv, als der Normalbevölkerung entspricht.

Literaturverzeichnis

- (1) Blumberg 1965: A "New" Antigen in Leukemia Sera
 JAMA 191 : 541
- (2) Blumberg 1967: A Serum Antigen In Downs Syndrom
 and Leukemia Sera. Am. Intern.
 Med. 66: 924
- (3) Prince 1968: Au Ag Detected in the Blood During
 the Inkubation of SH. Proc. Nat.
 Acad. Sci. USA 60: 814
- (4) Krugman 1970: Viral Hepatitis: A New Light on an
 Old Disease. JAMA 212: 1019
- (5) Shulman 1970: HAA. American Journ. Med. 49: 669
- (6) Krassnitzky 1970: Au-Ag und Lebererkrankung. DMW
 95: 249
- (7) Sherlock 1970: Chronic Liver Disease and Priamary
 Liver - Cell - Cancer with Au Ag.
 Lancet I: 1243
- (8) Feinmann 1973: Relation of Hepatitis B-Antigen in
 Symptom-Free Carriers to Geographi-
 cal Origin and Liver Abnormalities.
 Lancet II: 867
- (9) Millmann 1970: Au-Ag: Purification and Physical
 Properties. Journ. of Experim. Med.
 131: 1190
- (10) Gerin 1969: Biophysical Properties of Au-Ag.
 J. of Virology 4: 763
- (11) Dane 1970: Virus-like Particles in Serum of
 Patients with Au-Ag. Lancet I: 695

- (12) Almeida 1971 A New Antigen-Antibody System in
Au-Ag Positiv Hepatitis. Lancet II
1225
- (13) Zuckerman 1974: New Tests for Hepatitis B Virus.
New Engl. J. of Med. 290: 1373
- (14) Gerin 1971: Au-Ag: Large Scale Purification from
Human Serum and Biochemical Studies
of its Proteins. J. of Virology 7: 569
- (15) Zuckerman 1975: More Antigens in Hepatitis B.
Nature 253: 13
- (16) Le Bouvier 1971: The Heterogenity of Au-Ag. J.
of infectious Diseases 123: 671
- (17) Kim 1971: Immunologic and Electrophoretic
Heterogenity of Au-Ag. J. of infectious
Diseases 123: 618
- (18) Nielson 1974: Incidence and Meaning of the "e"
Determinante Among Hepatitis B -
Antigen Positiv Patients with Acute
and Chronic Liver Disease. Lancet II:
913
- (19) Kaboth 1972: Serologische Subtypen des Hepatitis
B-Antigens. DMW 97: 1579
- (20) Hollinger 1973: Subtyping of Hepatitis B-Antigen by
Use of a Monospecific Antibody-coated
Cells. J. of infectious Diseases 128:
753
- (21) Krugman 1971: Studies on Activ Immunisation.
JAMA 217: 41
- (22) Krugman 1970: HV - Effect of Heat on the Infectivity
and Antigenicity of the MS -1 and MS-2
Straines. J. of infect. Diseases 122: 723

- (23) Brzosko 1971: Au-Ag: Immune-Complexes in Patients with Different Forms of Hepatitis. J. of infect. Diseases 123: 251
- (24) Hoofnagle 1974: Antibody to Hepatitis B Core Antigen. New Engl. J. of Med. 290:1336
- (25) Krugman 1974: DNA - Polymerase Activity and Antibody to Hepatitis B Core Antigen. New Engl. J. of Med. 290: 1331
- (26) Barker 1974: Hepatitis B Core Antigen: Immunology and Elektron Microscopy. J. of Virology 14: 1552
- (27) Kaplan 1974: DNA-Polymerase Associated with Human Hepatitis B Antigen J. of Virology 12: 995
- (28) Hirschman 1974: DNA-Polymerase and Hepatitis B-Antigen. J. of infect. Diseases 130: 206
- (29) Hirschman 1971: Polymerase in Preparations Containing AuAg. Lancet I: 1099
- (30) Robinson 1974: DNA of a Human Hepatitis B Virus Candidate. J. of Virology 12: 384
- (31) Almeida 1970: Das Au-Ag und seine Beziehung zur Hepatitis. Der Internist 11: 73
- (32) Weise 1972: Zur Epidemiologie der Virushepatitis. Zeitschrift für Allgemeinmed. 48: 365
- (33) Rodriguez 1971: PTH-Effect of Modified Gammaglobulin Added to Blood in Vitro. New Engl. J. of Med. 285: 925
- (34) Fiedler 1975: Risk of Transfusing Blood Containing Anti HB_s. Lancet I: 341

- (35) Szmmenss 1974: Hepatitis B Infection. JAMA 227 II: 901
- (36) Heathcote 1973: Spread of Acute Type-B Hepatitis in London. Lancet I: 1468
- (37) Hersh 1971: Nonparenteral Transmission of Viral Hepatitis B. New Engl. J. of Med. 285: 1363
- (38) Jefferish 1973: Au-Ag in Patients Attending a Clinic for Venereal Diseases. British Med. J. 2: 455
- (39) Fulford 1973: Australia Antigen and Antibody Among Patients Attending a Clinic for Sexual Transmitted Diseases. Lancet 1: 1470
- (40) Papaevangelou 1974: Prevalence of Hepatitis B-Antigen and Antibody in Prostitutes. Brit. Med. J. 26: 256
- (41) Cherubin 1972: Acquisition of Antibody to HAA in Three Socioeconomically Different Medical Populations. Lancet I: 149
- (42) Grob 1971: Faecal SH-Antigen in Acute Hepatitis Lancet I: 206
- (43) Cameron 1974: Hepatitis B Antigen in Saliva et Semen. Lancet I: 71
- (44) Calvin 1974: Hb-Ag in Breast Milk. Lancet II: 155
- (45) Buchholz 1974: Hb-Ag Carrier State in an Infant Delivered by Caesarean Section. Lancet II/ 343
- (46) Bagshawe 1973: Hepatitis B-Antigen in a Rural Community in Kenya. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 67: 663

- (47) Henninghausen 1972: Über die Voraussetzungen der Übertragung von Serumhepatitis durch blutsaugende Arthropoden. Diss. Frankfurt 1972
- (48) Zuckerman 1973: Role of Mosquitoes in Transmission of Hepatitis B-Antigen. J. of infect. Diseases 128: 258
- (49) Lander 1971: Viral Hepatitis B (MS-2-Strain). Detections of Antibody After Primary Infection. New Engl. J. of Med. 285: 303
- (50) Gast 1973: Specific Lymphocyte Stimulation by Purified, Heat-inactivated Hepatitis B-Antigen. Brit. Med. J. 4: 707
- (51) Nielson 1973: Subtypes of Au-Ag Among Patients and Healthy-Carriers in Copenhagen. New Engl. J. of Med. 288: 1257
- (52) Creutzfeldt 1973: Gammaglobulin-Propylaxe bei Bluttransfusionen. DMW 98: 228
- (53) Ginsberg 1972: Verhinderung der endemischen HAA-positiven Hepatitis durch Gammaglobulin. New. Engl. J. of Med. 285: 526
- (54) Study 1971: Prophylactic Gammaglobulin in the Prevention of Endemic Hepatitis. Arch. intern. Med. 128: 723
- (55) Creutzfeldt 1966: Untersuchung zur Prophylaxe der Transfusionshepatitis durch Gammaglobulin. DMW 91: 1905
- (56) Krugman 1971: Viral Hepatitis B. Prevention with Specific Hepatitis Immune-Serum-Globulin. JAMA 218: 1665

- (57) Blum 1973: Serumhepatitis - Prophylaxe mit Immun-Globulin. Schweiz. Med. Wsft. 103: 360
- (58) Holland 1972: Gammaglobulin for Hepatitis B Virus Lancet I: 1110
- (59) Szmmenss 1974: Effectivness of Hepatitis B-Immune-Globulin in Hämodialysis Patients. Lancet II: 1512
- (60) Zuckerman 1973: Infusion of Hepatitis B Antibody in Antigen Positive Active Chronic Hepatitis. Lancet II: 581
- (61) Reed 1974: Exposure and Immunity to Hepatitis B Virus in a Liver Unit. Lancet I: 581
- (62) Lewis 1972: Au-Ag/ Detection and Comperison of Results Obtained With Five CEP and One RIA-Test System. Transfusion 12: 301
- (63) Seidl 1974: Der Nachweis von Hepatitis B Antigen bei Blutspendern durch die passive Hämagglutination. Klin. Ws 52: 599
- (64) Gros 1973: Möglichkeiten der Hepatitisprophylaxe. DMW 98: 2305
- (65) Karetz 1973: PTH in Recipients of Blood Screened by Newer Assay. Lancet II: 694
- (66) Lewin 1974: Hepatitis B Transmission by Dentists JAMA 228,2: 1139
- (67) Tripatzis 1971: Detection of Australia-SH-Antigen in Urine. Nature 231: 266

- (68) London WT 1969: An Epidemic of Hepatitis in a
Chronic Hämodialysis Unit. New.
Engl. J. of Med. 281: 1
- (69) Knight AH 1970: HAA and Antibody in Hämodialysis
Patients and Staff. Brit. Med. J.
12: 603

Ich möchte mich an dieser Stelle ganz herzlich bei
Herrn Professor Dr. W. LANG für die Überlassung
des Themas bedanken und dafür, daß er mir jederzeit
mit Rat und Tat hilfreich zur Seite stand.

LEBENS LAUF

Ich wurde am 18. Januar 1950 als drittes Kind des Berufsschullehrers Josef ROESSNER und seiner Gattin Maria, geb. März in Dillingen a.d. Donau geboren. 1956 trat ich in die Volksschule ein, von wo aus ich 1960 auf das musische Gymnasium der Franziskanerinnen überwechselte. 1969 bestand ich das Abitur. Im Wintersemester 1969/70 studierte ich an der Universität München Germanistik und Geschichte. Im Sommersemester 1970 konnte ich mit dem Medizinstudium beginnen, das ich mit der Ablegung des Staatsexamens im Verlauf der letzten Monate des Jahres 1975 beendigte.

